Aus dem Zentralinstitut für Anaesthesiologie
und Transfusionsmedizin
Direktor: Professor Dr. R. Schorer
und der Chirurgischen Klinik und Poliklinik
Direktor: Professor Dr. L. Koslowski
der Universität Tübingen

Der Einfluß von Dexamethason auf Stoffwechselparameter und Enzyme im Gehirngewebe Schädel-Hirn-traumatisierter Meerschweinchen

INAUGURAL-DISSERTATION
zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizin
der Medizinischen Fakultät
(Klinische Medizin)
der Eberhard-Karls-Universität zu Tübingen

vorgelegt von
Christian Homan
aus Itzehoe

1981

Aus dem Zentralinstitut für Anaesthesiologie
und Transfusionsmedizin
Direktor: Professor Dr. R. Schorer
und der Chirurgischen Klinik und Poliklinik
Direktor: Professor Dr. L. Koslowski
der Universität Tübingen

Der Einfluß von Dexamethason auf Stoffwechselparameter und Enzyme im Gehirngewebe Schädel-Hirn-traumatisierter Meerschweinchen

INAUGURAL-DISSERTATION
zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizin
der Medizinischen Fakultät
(Klinische Medizin)
der Eberhard-Karls-Universität zu Tübingen

vorgelegt von
Christian Homan
aus Itzehoe

1981

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Dekan: Professor Dr. G. Rassner
1. Berichterstatter: Professor Dr. J. Hausdörfer
2. Berichterstatter: Professor Dr. W. Heller

Inhaltsverzeichnis

		Seite
1.	Einleitung	2
2.	Material und Methode	4
2.1.	Untersuchungsmaterial	4
2.2.	Narkose	4
2.3.	Traumatisierung	5
2.4.	Zeitlicher Ablauf und Medikation	5
2.5.	Präparation	6
2.6.	Laborbestimmungen	7
2.7.	Statistik	7
2.8.	Fehlerdiskussion	8
3.	Ergebnisse	9
3.1.	Allgemeiner Teil	9
3.2.	Darstellung der Einzelergebnisse	10
4.	Diskussion	11
4.1.	Traumaapplikation	11
4.2.	Narkose	11
4.3.	Diskussion der Einzelergebnisse	11
4.4.	Dexamethasonwirkung im Metabolismus	15
5.	Zusammenfassung	18
6.	Graphische Darstellungen	20
7.	Tabelle	22
8.	Literaturverzeichnis	23

1. Einleitung

Der Einsatz von Glucocorticoiden ist heutzutage eine übliche Behandlungsmethode in der Neurochirurgie und in der neurologischen Therapie, seit 1959 erstmals auf die Wirksamkeit dieser Steroidklasse bei der Behandlung des Hirnödems unterschiedlicher Genese hingewiesen wurde [GALICICH u. FRENCH, 1961].

Ihre Wirkung liegt vor allem in der Besserung der klinischen Zeichen und Symptome des gestiegenen intercranialen Druckes [DIEMATH, 1975; BOUZARTH u. SHENKIN, 1974; SUCHENWIRTH, 1978]. Der eigentliche Mechanismus jedoch, der zu der Verbesserung des klinischen Zustandes beim Hirnödem führt, ist bis heute unbekannt. Neuere Arbeiten [CLASEN, 1972; DICK u. Mitarb., 1976; HAUSDÖRFER, 1977; KRYLOV u. Mitarb., 1972; LONG u. Mitarb., 1972; NELSON, 1974; NEUENFELDT u. Mitarb., 1974; ORTEGA u. Mitarb., 1972; SEITZ u. Mitarb., 1972; TORNHEIM u. Mitarb., 1978; TUTT u. PAPPIUS, 1972; WALDRON u. Mitarb., 1975; WITHROW u. WOODBURY, 1972], die anhand von Tierexperimenten, die therapeutische Wirkung der Glucocorticoide abklärten, führen zu unterschiedlichen Ergebnissen.

Bei der Behandlung des cerebralen Traumas zeigt sich sowohl Wirkungslosigkeit der Glucosteroide als auch ausgezeichnete therapeutische Wirkung.

Eine Erklärung finden diese Diskrepanzen durch die unterschiedlichen Versuchsbedingungen. Vor allem ist dabei auf folgende Punkte bei der experimentellen Durchführung zu achten [LONG u. Mitarb., 1972]:

(1) die Art der Traumatisierung
(2) die Applikationszeit und die Dosis der Glucocorticoide
(3) der unterschiedliche Metabolismus der verschiedenen Tierarten
(4) die Größe des Gehirns und der Anteil an weißer Gehirnsubstanz

Werden die Arbeiten auf diese Kriterien hin näher untersucht, so beruht der Mißerfolg der Untersuchungen, die keine Wirksamkeit der Glucocorticoidtherapie nachweisen können, auf methodischen Fehlern in der Versuchsdurchführung. Der Therapieerfolg in den meisten bisherigen Veröffentlichungen wird an morphologisch-histologischen Gesichtspunkten beurteilt. Ansätze, die den Metabolismus der Glucose, des Hauptenergieträgers des Gehirns, unter Dexamethason betrachten, sind bislang kaum formuliert worden, obwohl bekannt ist, daß Glucosteroide den Stoffwechsel, besonders den Kohlenhydratstoffwechsel, beeinflussen.
Nur einige Parameter des Glucosestoffwechsels im Serum sind unter Glucosteroidtherapie bestimmt worden [HAUSDÖRFER, 1977; REICHERT, 1978].
Einschränkend ist zu diesen Untersuchungen anzumerken, daß ein Rückschluß von Veränderungen im peripheren Blut auf die Verhältnisse im Gehirngewebe nicht ohne weiteres möglich ist. Daher wird in den folgenden Untersuchungen die Aktivitätsänderung ausgewählter Enzyme und Konzentrationsänderungen bestimmter Substrate des Citronensäurecyclus und das eine Endprodukt der Glykolyse, das Pyruvat, im Gehirngewebe traumatisierter Meerschweinchen unter Dexamethasontherapie analysiert.

2. Material und Methode

2.1. Untersuchungsmaterial

Tabelle 1:

	I	II	III	IV	V
Durchschnittsgewicht (g)	882	870	830	862	798
Gesamtzahl	33	35	36	36	20
Tod durch Narkose oder Trauma	5	6	7	5	17
ausgewertete Tiere	28	29	29	31	--

I Traumatisiert, keine Therapie, Substratbestimmung

II Traumatisiert, Therapie, Substratbestimmung

III Traumatisiert, keine Therapie, Enzymbestimmung

IV Traumatisiert, Therapie, Enzymbestimmung

V Testserie zur Bestimmung der Narkosedosis und zur Ermittlung der Präparierverfahren

Die Bestimmung der Substrate und Enzyme erfordert zwei verschiedene Tierserien, da von jedem Versuchstier durchschnittlich 3,2 g Hirngewebe gewonnen wird. Diese Menge reicht jedoch nicht aus, um alle Bestimmungen durchzuführen.

Außerdem ist eine andere Aufarbeitung bei der Enzymbestimmung als bei der Analyse der Substrate erforderlich.

Aus BERGMEYERS (1974) Untersuchungen können die Normalwerte der Enzyme und Substrate beim Meerschweinchen entnommen werden, so daß eine eigene Bestimmung von Normalwerten in Form einer Nullserie ohne Trauma und ohne Therapie mit Dexamethason nicht gerechtfertigt ist.

2.2. Narkose

Als Narkotikum dient Pentobarbital-Natrium (Nembutal^{R}),

das intraperitoneal in Kopftieflage injiziert wird. Die günstigste Dosis zur Traumatisierung ergibt sich aus der Testserie zu 3 mg Nembutal^{R}/100 g Körpergewicht, wobei das Pentobarbital-Natrium mit physiologischer Kochsalzlösung auf 3 ml Volumen verdünnt wird.
6 mg Nembutal^{R}/100 g Körpergewicht werden zur Eröffnung der Kalotte und der Gehirnentnahme appliziert.

2.3. Traumatisierung

Nach Injektion des Narkotikums wird gewartet, bis der Kornealreflex nicht mehr auslösbar ist. Mit der von REICHERT (1978) entwickelten Apparatur werden die Meerschweinchen traumatisiert. Mit dieser ist es möglich, ein energetisch genau definiertes, standardisiertes, mechanisches Trauma zu setzen, indem im Abstand von fünf Minuten dreimal 1,5 Joule appliziert werden.
Nachdem die Tiere traumatisiert sind, werden sie in Halbseitenlage in Einzelkäfigen gebracht, um die Atmung zu erleichtern.

2.4. Zeitlicher Ablauf und Medikation

Um cyclische Veränderungen im Stoffwechsel auszugleichen, ist es erforderlich, die einzelnen Versuchsschritte zu gleichen Tageszeiten durchzuführen. Vor dem ersten Eingriff bleiben die Meerschweinchen zwölf Stunden ohne Futter. Sie haben jedoch freien Zugang zu Wasser. Für die weiteren Manipulationen wird zwischen Dexamethason behandelten und unbehandelten Tieren unterschieden.

Gruppe I und III:

13.00 h Wiegen und Kennzeichnen der Meerschweinchen
3 ml 0,9 % NaCl i. p.

19.00 h 3 mg Nembutal^{R}/100 g Körpergewicht verdünnt mit 0,9 % NaCl auf 3 ml i. p.

Traumatisieren: 3 x 1,5 Joule im Abstand von je 5 Minuten nach Eintritt der Narkose

7.00 h 6 mg Nembutal^{R}/100 g Körpergewicht i. p.
Entnahme des Gehirns nach Eintritt der Narkose

Gruppe II und IV:

13.00 h Wiegen und Kennzeichnen
0,1 mg Dexamethason/100 g Körpergewicht verdünnt mit 0,9 % NaCl auf 3 ml i. p.

19.00 h 3 mg Nembutal^{R}/100 g Körpergewicht und 0,2 mg Dexamethason/100 g Körpergewicht verdünnt mit 0,9 % NaCl auf 3 ml i. p.
Traumatisieren: 3 x 1,5 Joule im Abstand von je 5 Minuten nach Eintritt der Narkose

7.00 h 6 mg Nembutal^{R}/100 g Körpergewicht i. p.
Entnahme des Gehirns nach Eintritt der Narkose

2.5. Präparation

Um das Gehirn der Meerschweinchen entnehmen zu können, werden die Tiere in Bauchlage auf einer Korkplatte fixiert, indem Kanülen durch die extendierten Extremitäten gestochen werden. Der dorsale Rand des Foramen Magnum wird durch Palpation bestimmt. Ein T-förmiger Hautschnitt wird gesetzt, wobei der senkrechte Balken in der Mediallinie bis zwischen die Augen verläuft und der Querbalken des T's am dorsalen Rand des Foramen Magnum liegt.
So entstehen zwei dreieckige Hautlappen, die nach lateral abgeklappt werden. Durch das Foramen Magnum wird mit einer kräftigen Verbandsschere eingestochen und die Kalotte wird in der Mediallinie bis an den Rand der

Orbita gespalten.
Nach zwei weiteren Schnitten in lateraler Richtung wird das Schädeldach in zwei Teilen abgehoben. Das Gehirn wird als Ganzes mit einem stumpfen Löffel entnommen und in einen Becher mit flüssigem Stickstoff eingebracht. Anschließend wird die Bauchhöhle eröffnet, um zu kontrollieren, ob injektionsbedingte Veränderungen vorliegen.

2.6. Laborbestimmungen

Nach BERGMEYER (1974) erfolgt die Bestimmung der einzelnen Parameter: Fumarat, Citrat, α-Ketoglutarat, Pyruvat und MDH.
Das bei -170° C tiefgefrorene Gewebe wird zur Aufarbeitung im Mörser homogenisiert. Um die Substrate zu bestimmen, wird das Homogenesat mit Trifluoressigsäure enteiweißt, während das Gewebe für die Enzymbestimmung in physiologische Kochsalzlösung aufgenommen wird. Die Proben werden zehn Minuten in einem Eisbad stehengelassen und werden anschließend in einer auf 0° C vorgekühlten Zentrifuge bei 4000 UpM zentrifugiert. Der Überstand der Substratproben wird abpipettiert, neutralisiert oder auf den erforderlichen pH-Wert eingestellt und erneut zentrifugiert. Bei der Bestimmung der Enzyme wird der Überstand direkt eingesetzt.
Folgende Experimente werden abgeändert:
Die Ansätze für α-Ketoglutarat, Citrat und Malat werden halbiert, der Ansatz für Pyruvat hingegen verdoppelt.
Bei dem Ansatz für die Enzymbestimmung wird anstelle von 1 ml Serum 1 g Gehirngewebe unter Berücksichtigung der entstehenden Verdünnung eingesetzt.

2.7. Statistik

Die statistische Auswertung erfolgt durch die Bestimmung

von Mittelwert, Standardabweichung und Varianz. Die Signifikanz der gefundenen Veränderungen unter Dexamethasonmedikation wird mit Hilfe des t-Testes untersucht. Die Irrtumswahrscheinlichkeiten betragen 1 oder 5 %.
Die Voraussetzung für t-Test, die Varianzgleichheit, ist nicht immer gegeben, daher wird eine modifizierte Form des Testes für ungleiche Varianzen nach PFLANZAGL (1974) angewandt.*
Das Vorliegen von Normalverteilungen wird mittels Wahrscheinlichkeitspapier überprüft. Unter Berücksichtigung der relativ geringen Anzahl von Tieren in jeder Stichprobe, kann das Vorhandensein von Normalverteilungen angenommen werden.

2.8. Fehlerdiskussion

- Narkose

Da die Meerschweinchen unterschiedlich auf das Narkotikum ansprechen, ist es nicht möglich, im gleichen Zeitraum gleiche Muskelrelaxation zu erreichen. Diese Diskrepanz führt zu einer unterschiedlichen Intensität des mechanisch gesetzten Traumas.

- Probenentnahme

Aus der unterschiedlichen Narkosetiefe resultieren ungleiche Kreislaufverhältnisse. So weisen Tiere mit weniger tiefer Narkose periphere Vasodilatation auf, die mit zunehmender Tiefe der Narkose sehr schnell in periphere Vasokonstriktion umschlägt. Geringe zeitliche Differenzen treten zwischen der Entnahme des Gehirns aus dem Schädel und dem Einbringen in flüssigen Stickstoff auf.

- Probenaufarbeitung

Der größte methodische Fehler tritt bei der Einwaage des tiefgefrorenen Gewebes auf. Durch die Hygroskopie des

---

* Ich danke Herrn Prof. K. Dietz für die Ausarbeitung eines Programmes.

Gewebes wird unterschiedlich viel Wasser aus der Luft durch Kondensation und Reifbildung aufgenommen. Der Fehler beläuft sich bis auf ca. 20 %.

- Laborbestimmung

Hier treten die üblichen Fehler durch Ungenauigkeiten bei der Einwaage der Reagenzien und beim Pipettieren auf.

3. Ergebnisse

3.1. Allgemeiner Teil

Als Folge des Traumas treten bei den Meerschweinchen Schädelfrakturen und teilweise Blutungen aus dem Nasen-Rachen-Raum auf. Die prozentualen Häufigkeiten dieser Ereignisse wie auch die Letalität in den Gruppen I bis IV sind in Tabelle 2 zusammengefaßt.

Tabelle 2:

	I	II	III	IV
Frakturen	18 = 55 %	15 = 43 %	20 = 56 %	19 = 53 %
Blutungen	10 = 30 %	9 = 26 %	11 = 31 %	10 = 28 %
Letalität	5 = 15 %	6 = 17 %	7 = 19 %	5 = 14 %

Diese Angaben über Frakturen und Blutungen beziehen sich auf die überlebenden Tiere. Ob die Tiere an den Folgen der Narkose oder des Traumas verstorben sind, kann durch den Ablauf des Versuches nicht differenziert werden. Eine weitere Todesursache ist das Verlegen der Atemwege durch Blut, wobei erschwerend der durch das Narkotikum verminderte Atemantrieb wirkt.
Die durchschnittliche Narkosedauer beträgt sechs Stunden. Eine Dosisreduktion ist nicht möglich, da die Tiere aufgrund ungünstiger Resorptionsverhältnisse aus dem Peritoneum keine ausreichende Narkosetiefe erreichen.
Im Gegensatz zu REICHERT (1978) kann in dieser posttraumatischen Narkosephase kein auffälliger Unterschied im Verhalten der Meerschweinchen, wie schnellere Er-

holung oder eine kürzere Zeitspanne bis zur Wiedererlangung des Bewußtseins, beobachtet werden.

3.2. Darstellung der Einzelergebnisse

Malatdehydrogenase (EC 1.1.1.37)
Die Aktivität der MDH zeigt bei den mit Dexamethason therapierten Tieren einen Abfall auf etwa ein Drittel des Wertes der nicht therapierten Tiere.
($35{,}33 \pm 19{,}53$ U/kg bzw. $106{,}19 \pm 66{,}36$ U/kg). Der t-Test ergibt einen hochsignifikanten Unterschied ($p \leq 0{,}001$). (Vergleiche Abb. 2, S. 20)

Citrat
Die Mittelwerte der Citratbestimmung betragen bei den therapierten Tieren $0{,}52 \pm 0{,}15$ mMol/kg und bei den nicht therapierten $0{,}87 \pm 0{,}22$ mMol/kg. Damit läßt sich ein statistisch signifikanter Unterschied berechnen ($p \leq 0{,}001$). (Vergleiche Abb. 3, S. 20)

Fumarat
Die Therapie mit Dexamethason ergibt einen Abfall der gemessenen mittleren Fumaratkonzentration von $0{,}076 \pm 0{,}028$ mMol/kg auf $0{,}048 \pm 0{,}011$ mMol/kg und somit einen statistisch signifikanten Unterschied ($p \leq 0{,}001$). (Vergleiche Abb. 4, S. 21)

Pyruvat
Der Abfall des Gehalts an Pyruvat von $28{,}40 \pm 13{,}80 \times 10^{-3}$ mMol/kg auf $25{,}15 \pm 11{,}41 \times 10^{-3}$ mMol/kg bei den therapierten Tieren ist statistisch nicht signifikant. (Vergleiche Abb. 5, S. 21)

α-Ketoglutarat
Die Bestimmung von α-Ketoglutarat ergibt keine meßbaren Konzentrationen.

4. Diskussion

4.1. Traumaapplikation

Unter Berücksichtigung früherer Ergebnisse [HAUSDÖRFER, 1977] kann davon ausgegangen werden, daß bei der angewendeten Art der Traumatisierung Veränderungen im Sinne einer Contusio Cerebri eintreten.
Die prozentuale Häufigkeit der Frakturen ist in allen Versuchsgruppen nahezu gleich. Daher kann angenommen werden, daß das Ausmaß der contusionellen Schäden keine allzu große Streuung zeigt.
Inwiefern die Narkosetiefe die Traumatisierung beeinflußt, wird im Kapitel Fehlerdiskussion erörtert.

4.2. Narkose

Der Einfluß der Barbiturate auf die Konzentrationen der Substrate und die Enzymaktivitäten wird verdeutlicht durch den Vergleich mit Meßergebnissen, die unter dem Einfluß verschiedener Narkotika gewonnen worden sind [BERGMEYER, 1974].
Inwieweit die Barbiturate den Zellstoffwechsel über die von ihnen ausgelöste Atemdepression beeinflussen, kann kaum abgesehen werden. Die streng identische Durchführung der Narkose in den einzelnen Versuchsgruppen, vor allem durch die gewichtsangepaßte Dosierung, gewährleistet relativ konstante Versuchsbedingungen. Wie weitgehend eine Parameterveränderung, insbesondere die Entwicklung des Hirnödems, durch die Applikation des Traumas unter Narkose bewirkt wird, kann nicht beurteilt werden.

4.3. Diskussion der Einzelergebnisse

Die Substrate des Citronensäurecyclus Citrat, Fumarat und α-Ketoglutarat und das "Endprodukt" der Glykolyse unter aeroben Bedingungen, Pyruvat, werden bestimmt, um die Wirkungsweise des Dexamethasons beim Schädel-Hirn-

Trauma abzuklären. Die Krebscyclus-Substrate nehmen in ihrer Konzentration unter Dexamethasontherapie statistisch signifikant ab. Ausgenommen von dieser Änderung ist Malat, bei dem GÖRITZ (1981) eine unveränderte Konzentration feststellt.
Im Einklang mit diesen Konzentrationsabnahmen unter Glucosteroidtherapie steht das Ergebnis am Isocitrat, das im Gehirngewebe traumatisierter Meerschweinchen bestimmt wurde [GÖRITZ, 1981].
Diese Veränderungen im Stoffwechsel lassen sich durch folgende Überlegungen über den Abbau des "Glykolyseendprodukts" Pyruvat in Übereinstimmung bringen.
Insgesamt vier Wege stehen dem Pyruvat für seinen oxidativen Abbau zur Verfügung:

a) Die Benztraubensäure wird zu Malat durch die decarboxylierende Malatdehydrogenase umgesetzt. Bislang konnte dieses "Malic-Enzyme" nur in der Leber nachgewiesen werden, so daß der Gehirnmetabolismus keinen Gebrauch von diesem Abbauweg macht.
b) Das Pyruvat wird durch die LDH zu Lactat hydriert. Bei untherapierten Meerschweinchen mit Schädel-Hirn-Trauma fand HAUSDÖRFER (1977) keine entscheidende Erhöhung im Lactatgehalt gegenüber den behandelten Tieren. Daher kann diesem Weg keine größere Bedeutung beigemessen werden, da das Lactat in seiner Konzentration nur unwesentlich durch das Dexamethason beeinflußt wird.
c) Die Pyruvatcarboxylase setzt Benztraubensäure zu Oxalacetat um und leitet damit die Umkehr der Glykolyse, die Gluconeogenese, ein.
d) Die oxidative Decarboxylierung des Pyruvats durch einen Enzymkomplex in den Mitochondrien führt zu Acetyl-CoA. Diese aktivierte Essigsäure wird in den Citratcyclus eingeschleust.

Die entscheidenden Abbaureaktionen des Pyruvats werden unter (c) und (d) beschrieben, während die beiden ersten Punkte aus den diskutierten Gründen nicht in Betracht gezogen werden.

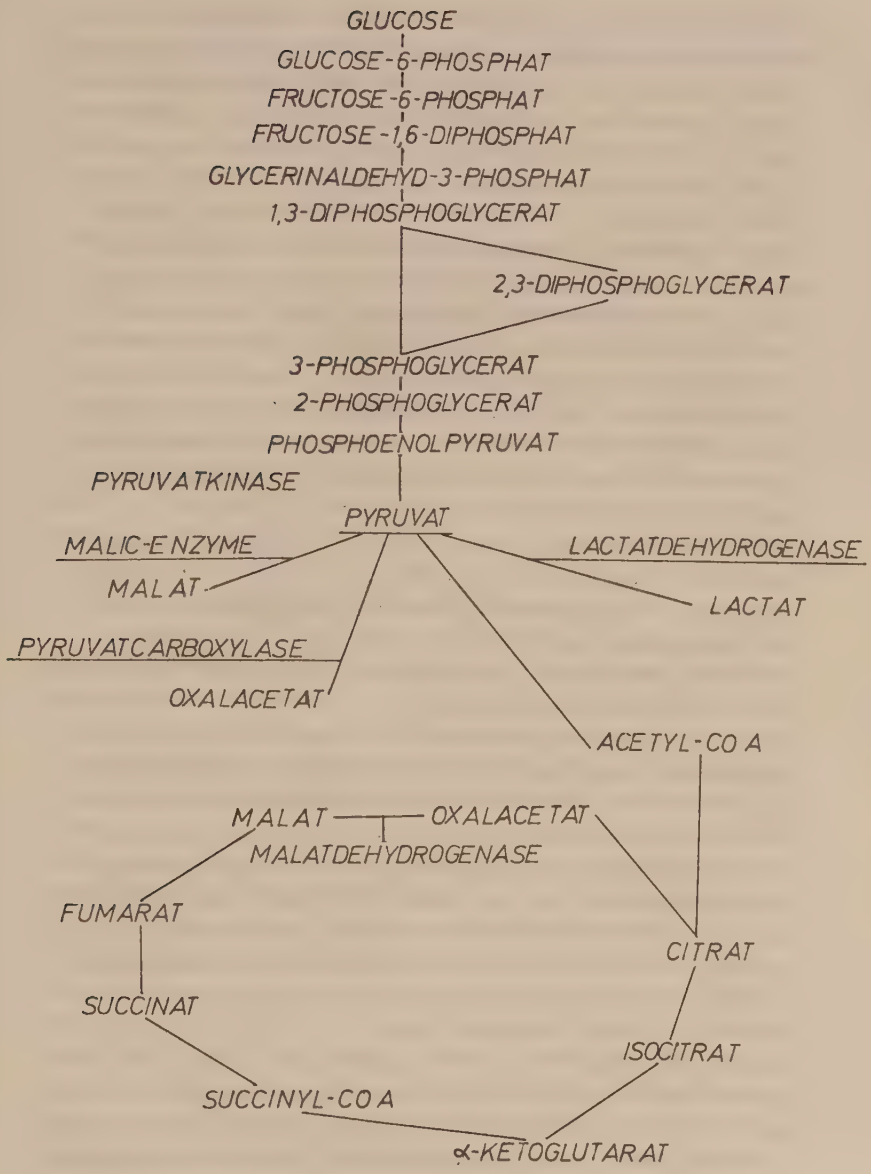

Abb.1: Glycolyse und Citratcyclus. Vereinfachtes Schema

Um die Einschleusung des "Glykolyseendprodukts" Pyruvat in den Citronensäurecyclus näher zu untersuchen, bietet sich die Aktivitätsmessung der MDH an. Dieses Enzym katalysiert die Entstehung von Oxalacetat. Das Oxalacetat ist das entscheidende Substrat des Citronensäurecyclus, da es die kürzeste Halbwertszeit aller Krebscyclussubstrate besitzt.
Seine stationäre Konzentration ist daher geschwindigkeitsbestimmend für den gesamten Cyclus. Der Reaktionspartner der aktivierten Essigsäure, des wichtigsten Metaboliten des Pyruvats, für seine Einschleusung in den Citratcyclus ist das Oxalacetat. Die Konzentration des Oxalacetats wird durch die Aktivität der MDH gesteuert. Daher kann durch die Messung ihrer Aktivität das Ausmaß der Einschleusung von Acetyl-CoA in den Citronensäurecyclus bestimmt werden.
Glucocorticoide hemmen die oxidative Decarboxylierung von Pyruvat zu Acetyl-CoA und daher den oxidativen Endabbau der Kohlenhydrate [BUDDECKE, 1973]. Folglich ist die Entstehung von Citrat aus Oxalacetat unter Glucosteroiden verringert. Die Folge ist letztlich eine verminderte Citratkonzentration.
Die unter Dexamethasontherapie erniedrigte MDH-Aktivität erklärt sich somit durch eine erhöhte Oxalacetatkonzentration, die durch eine Verminderung des Acetyl-CoA-Angebots und einer entsprechenden Drosselung der Citratsynthese hervorgerufen wird. Die erhöhte Oxalacetatkonzentration wirkt dabei als Inhibitor der MDH. Die Abnahme der Aktivität der MDH unter Glucocorticoiden bewirkt eine konstante Malatkonzentration, während die Substrate Citrat, Fumarat und auch Isocitrat in ihren Konzentrationen verringert sind.
Die Konzentration des α-Ketoglutarats ist im Gehirngewebe der traumatisierten Meerschweinchen mit dem optischen Test nach BERGMEYER (1974) nicht bestimmbar. Nach KARLSON (1972) wird α-Ketoglutarat im Gehirn vollständig in Glutamat überführt, so daß die stationäre Konzen-

tration eine Bestimmung nicht zuläßt. Die gleichbleibende Konzentration des Pyruvats steht im Einklang mit den konstanten Konzentrationen von 2-Phosphoglycerat und Phosphoenolpyruvat [GÖRITZ, 1981]. Diese Konstanz für Pyruvat ist eine Folge der Abnahme der Aktivität der Pyruvatkinase [GÖRITZ, 1981] unter Dexamethasontherapie, die zu einem geringeren Durchsatz in der Glykolyse unter nahezu unveränderten stationären Substratkonzentrationen führt, und der gleichzeitigen Hemmung der oxidativen Decarboxylierung zu Acetyl-CoA unter Dexamethasonmedikation.
Die unveränderten Konzentrationen von Phosphoenolpyruvat und 2-Phosphoglycerat werden hingegen durch eine Verminderung der Glykolyse bei gleichzeitiger Erhöhung der Gluconeogenese erklärt. Als Ursache wird hauptsächlich die vergrößerte ATP-Konzentration unter der mehr aeroben Stoffwechsellage unter Glucocorticoiden in Betracht gezogen [GÖRITZ, 1981].

4.4. Dexamethasonwirkung im Metabolismus

Neben den direkten Wirkungen des Dexamethasons auf die Enzymaktivitäten muß die membranstabilisierende Wirkung in Betracht gezogen werden, die bewirkt, daß unter Therapiebedingungen die räumliche Geometrie der Atmungskette in der inneren Mitochondrienmembran erhalten bleibt. Hierdurch ist eine ausreichende oxidative Phosphorylierung gewährleistet und somit kann die Stimulierung der Glykolyse ausbleiben.
Da die Wirkung des Dexamethasons als Membranstabilisator nur bei intakten oder weitgehend unversehrten Membranen einsetzen kann, ist eine posttraumatische Applikation trotzdem nicht nutzlos, da sich das Hirnödem nicht nur am Ort der mechanischen Schädigung und direkt nach dem Trauma ausbildet, sondern sich die Ödemflüssigkeit über das primär geschädigte Gebiet hinaus ausbreitet, so daß die Membranschädigung sich mit einer gewissen Eigengesetzlichkeit auf weiter entfernte Re-

gionen fortsetzt [BENSON u. Mitarb., 1972].
Diese Zerstörung mindert die Integrität und Funktionalität der Membranstrukturen entscheidend.
Für die Wirkung der Glucocorticoide stehen drei Mechanismen zur Verfügung:

a) Glucocorticoide besitzen eine anticatecholaminerge Wirkung und sind mit dieser Eigenschaft Antagonist zu Histamin und Serotonin, welche einen erheblichen Einfluß auf die Gefäßpermeabilität ausüben.
b) Glucocorticoide werden so in die Membranen eingelagert, daß sie die ungesättigten Fettsäuren vor der Oxidation schützen und somit die Funktionsfähigkeit noch nicht entscheidend geschädigter Membranen erhalten.
c) Durch die Einlagerung in intakte Membransysteme vermögen die Glucocorticoide über sterische Einflüsse die Aktivität membrangebundener Enzyme zu steuern.

Außer dem letzten Punkt, der im Zusammenhang mit der Diskussion der Einzelergebnisse Bedeutung erlangt, ist Punkt (b) entscheidend. Übereinstimmend mit der Einlagerung der Glucosteroide in Membranen finden WITHROW und WOODBURY (1972) nach intravenöser Applikation im Gehirngewebe eine höhere Konzentration als im Serum.
Aus dem Verlauf der Ödemgenese erklärt sich die schädigende Wirkung an Membranstrukturen:
Über die Entstehung des Ödems bestehen zwei unterschiedliche Ansichten. Die Zunahme der cerebro-vaskulären Permeabilität für Proteine, Wasser und Ionen wird einerseits als der entscheidende Mechanismus betrachtet [KLATZKO, 1972], während LONG u. Mitarb. (1972) die Zerstörung der junktionalen interzellularen Verbindungen ursächlich für die Ödembildung betrachten.
Im Extravasalraum werden aus Erythrozyten und dislozierten Zellorganellen, wie Mitochondrien, Metallkomplexe freigesetzt. Es handelt sich hierbei hauptsächlich um Eisenkomplexe aus Cytochromen und Hämoglobinen, die als oxidierende und peroxidierende Spezies gegenüber myelin-

haltigen und zellulären Membranen auftreten [ORTEGA u. Mitarb., 1972]. Bevorzugt werden über einen radikalischen Oxidationsmechanismus die ungesättigten Fettsäuren abgebaut. Diese Zerstörung mindert die Integrität und Funktionalität der Membranstruktur entscheidend.
Nachdem die Zellmembran des Cytoplasmas durchbrochen ist, werden auch die Mitochondrienmembranen durch die oxidierenden Agenzien angegriffen.
Die in der inneren Mitochondrienmembran angeordnete Elektronentransportkette ist nur funktionsfähig, wenn die räumliche Anordnung dieser Enzyme unversehrt ist. Daher bewirkt die Zerstörung dieser Membran eine Verringerung oder ein Ausbleiben der Zellatmung, und damit wird die Produktion von energiereichen Phosphaten behindert oder gänzlich eingestellt. REICHERT (1978) und HAUSDÖRFER (1977) finden achtzehn Stunden nach dem Trauma eine Abnahme der ATP-Konzentration bei traumatisierten Meerschweinchen.
Dieser Mangel an energiereichem Phosphat führt zu einer Steigerung der Glykolyse, indem die Aktivität des Schlüsselenzyms Phosphofructokinase erhöht wird.
Zwar wird jetzt mehr Substrat in den Citronensäurecyclus eingebracht, ohne daß jedoch mehr ATP produziert wird, da durch die Zerstörung der räumlichen Anordnung der Atmungskette die oxidative Phosphorylierung unmöglich geworden ist.
Die untherapierten Tiere zeigen einen erhöhten Glykolysedurchsatz, da die Hemmung der Pyruvatkinase durch ATP [BUDDECKE, 1973] und Dexamethason [GÖRITZ, 1981] entfällt.
Nach dem traumatisierenden Ereignis kann durch die Dexamethasontherapie ein Membranschutz geschaffen werden, der sich der ausbreitenden ödematösen Schädigung entgegenstellt.
Die Höhe der erforderlichen Dosis für Glucocorticoide erklärt sich teilweise aus der Schutzfunktion für die Membranen. Da Dexamethason nur membranwirksam ist, wenn möglichst viele Angriffspunkte für die Peroxidation

durch Dexamethason besetzt sind, muß eine bestimmte Höhe der Dosierung für diese Wirkung erforderlich sein. Ein Unterschreiten dieser Dosis erklärt die Wirkungslosigkeit für die Behandlung des Hirnödems.

5. Zusammenfassung

Die untersuchten Parameter des Citratcyclus und der Glykolyse ermöglichen eine Aussage über den Mechanismus der Dexamethasontherapie bei dem Schädel-Hirn-Trauma.
Ein statistisch signifikanter Abfall der Aktivität der MDH und statistisch signifikante Abnahme der Konzentrationen von Fumarat und Citrat zeigen sich, während sich die Konzentrationsabnahme von Pyruvat statistisch nicht sichern läßt.
Der Abfall der MDH-Aktivität unter Dexamethasontherapie erklärt sich durch eine erhöhte Oxalacetatkonzentration, die als Inhibitor der MDH wirkt.
Die Ursache für die erhöhte Oxalacetatkonzentration ist die Hemmung der oxidativen Decarboxylierung des Pyruvats zum Acetyl-CoA und somit des oxidativen Endabbaus der Glucose.
Die annähernd konstante Pyruvatkonzentration beruht auf der verminderten Aktivität der Pyruvatkinase unter Dexamethasontherapie und gleichzeitiger Hemmung der oxidativen Decarboxylierung zu Acetyl-CoA.
Die verminderte MDH-Aktivität unter Dexamethason führt zu einer gleichbleibenden Malatkonzentration, während die Substrate Citrat und Fumarat in ihrer Konzentration abnehmen.
Die vollständige Umwandlung des α-Ketoglutarats in Glutamat kann bestätigt werden, da sich mit der angewandten Meßmethode das α-Ketoglutarat nicht nachweisen läßt.
Die Aktivitätsabnahme der MDH unter Dexamethasontherapie führt zu einer geringeren Einschleusung von Acetyl-CoA in den Citronensäurecyclus.

Neben den direkten Mechanismen auf die Enzymaktivitäten spielt eine spezifische Wechselwirkung des Dexamethasons mit der Mitochondrienmembran eine entscheidende Rolle. Diese Wechselwirkung mit den Membranen gewährleistet den Ablauf des Elektronentransports in der Atmungskette und der gleichzeitig stattfindenden oxidativen Phosphorylierung.

6. Graphische Darstellungen

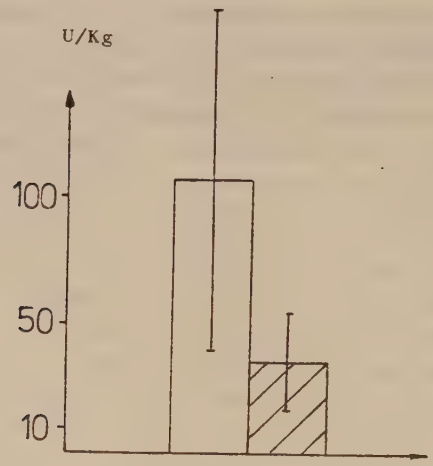

Abb. 2: Malatdehydrogenase

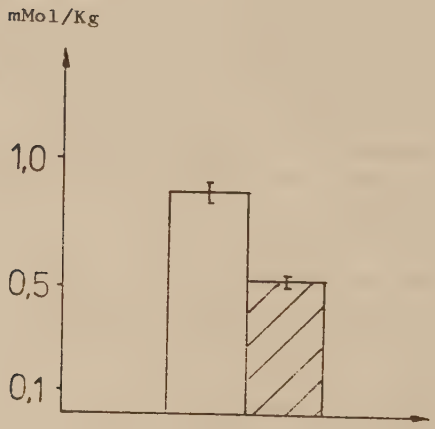

Abb. 3: Citrat

Die schraffierten Säulen stellen die Werte unter Dexamethasontherapie dar.

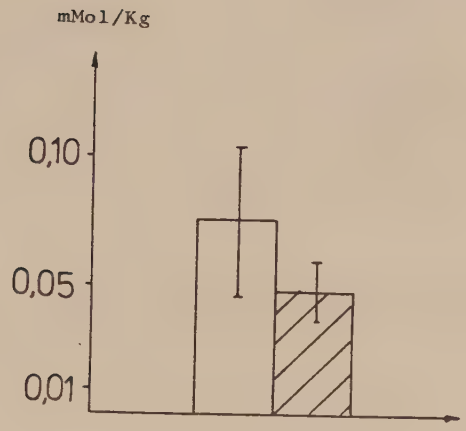

Abb. 4: Fumarat

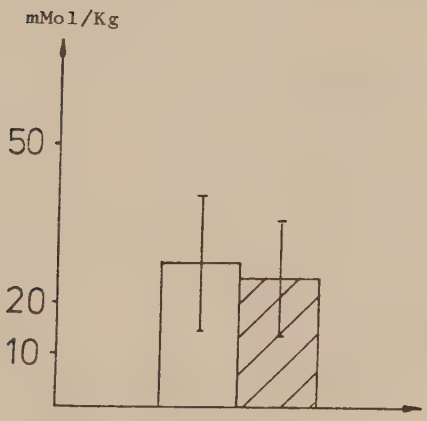

Abb. 5: Pyruvat

Die schraffierten Säulen stellen die Werte unter Dexamethasontherapie dar.

Tabelle 3: Darstellung der Einzelergebnisse und statistischer Vergleich

		ohne Dexamethason			mit Dexamethason				
Param.	Einheit	Anzahl	$\bar{x}$	S	Anzahl	$\bar{x}$	S	p	sign.
MDH	U/kg	36	106,79	66,36	36	35,33	19,54	0,001	ja
Citrat	mMol/Kg	33	0,867	0,217	35	0,522	0,153	0,001	ja
Fumarat	mMol/Kg	33	0,076	0,285	35	0,048	0,012	0,001	ja
Pyruvat	mMol/Kg	36	28,40	13,80	36	25,15	11,41	-	nein
-Keto-glutarat	mMol/Kg	33	-	-	35	-	-	-	-

8. Literaturverzeichnis

Akmaev, I. G.; Fidelina, O. V.; Radchenko, I. V.; Konovalova, L. K.:
Gistokhimicheskoe Issledovanie Tanitsitov V Cviazi S Adrenokortikotrovno'i Funktsie'i Gipofiza (Histochemical Study of Tanycytes in Connection with the Adrenocorticotropic Function of the Hypophysis).
Probl. Endokrinol. (Mosk) 21, 63 - 67 (1975)

Barlow, C. F.:
Physiology and Pathophysiology of Protein Permeability in the Central Nervous System.
In: Steroids and Brain Edema
ed. by H. J. Reulen, K. Schürmann
Berlin, Heidelberg, New York: Springer 1972, 139 - 146

Benson, V. M.; McLaurin, R. L.; Foulkes, E. C.:
Traumatic Cerebral Edema.
Arch. Neurol. (Chic.) 23, 179 - 186 (1970)

Bergmeyer, H. U.:
Methoden der enzymatischen Analyse.
3. Aufl., Weinheim/Bergstraße: Verlag Chemie 1974

Bouzarth, W. F.; Shenkin, H. A.:
Possible Mechanism of Action of Dexamethasone in Brain Injurie.
J. Trauma 14, 134 - 136 (1974)

Buddecke, E.:
Grundriß der Biochemie.
3. Aufl., Berlin, New York: de Gruyter 1973

Capon, A.; Hildebrand, J.; Verbist, A.; Fruhling, J.; Baleriaux, D.:
Changes in regional cerebral blood flows produced by Dexamethasone in patients with brain metastases.
Acta neurol. belg. 76, 325 - 330 (1976)

Clasen, R. A.; Hindo, W. A.; Pandolfi, S.; Laing, I.:
The Role of Necrosis and Inflammation in the Response of Cerebral Edema to Steroids.
In: Steroids and Brain Edema
ed. by H. J. Reulen, K. Schürmann
Berlin, Heidelberg, New York: Springer 1972, 157 - 166

Clasen, R. A.; Cooke, P. M.; Pandolfi, S.; Carnecki, G.; Hass, G. M.:
Steroid-Antihistaminic Therapie in Experimental Cerebral Edema.
Arch. Neurol. (Chic.) 13, 584 - 592 (1965)

Demopoulos, H. B.; Milvy, P.; Kakari, S.; Ransohoff, J.:
Molecular Aspects of Membrane Structure in Cerebral Edema.
In: Steroids and Brain Edema.
ed. by H. J. Reulen, K. Schürmann
Berlin, Heidelberg, New York: Springer 1972, 29 - 40

Dick, R. A.; McCallum, M. E.; Maxwell, J. A.; Nelsen, S. R.:
Effects of Dexamethasone on Experimental Brain Edema in Cats.
J. Neurosurg. 45, 141 - 147 (1976)

Diemath, H. E.:
Zur Behandlung des traumatischen Hirnödems.
Z. Allg. Med. 51, 869 - 871 (1975)

Ford, W.; Henschler, D.; Rummel, W.:
Pharmakologie und Toxikologie.
2. Aufl., Mannheim, Wien, Zürich: Bibliographisches Institut 1977

Galicich, J. H.; French, L. A.:
Use of Dexamethasone in the Treatment of Cerebral Edema Resulting from Brain Tumors and Brain Surgery.
Amer. Practit. (Philad.) 12, 169 - 174 (1961)

Göritz, E.:
Das Verhalten von Parametern der Glykolyse und des Citratcyclus im Gehirn von Meerschweinchen mit Schädel-Hirn-Trauma unter dem Einfluß von Dexamethason.
Tübingen: Inaugural-Dissertation 1981

Hausdörfer, J.:
Schädel-Hirn-Trauma und Enzymveränderungen.
München, Wien, Baltimore: Urban und Schwarzenberg 1977

Hossmann, K. A.; Olsson, Y.:
Functional Aspects of Abnormal Protein Passage Across the Blood-Brain-Barrier.
In: Steroids and Brain Edema
ed. by H. J. Reulen, K. Schürmann
Berlin, Heidelberg, New York: Springer 1972, 9 - 18

Jatzkewitz, H.:
Neurochemie
Stuttgart: Thieme 1978

Karlson, P.:
Biochemie.
9. Aufl., Stuttgart: Thieme 1974

Klatzko, I.:
Pathophysiological Aspects of Brain Edema.
In: Steroids and Brain Edema
ed. by H. J. Reulen, K. Schürmann
Berlin, Heidelberg, New York: Springer 1972, 1 - 8

Klingler, M.:
Das Schädel-Hirn-Trauma.
Stuttgart: Thieme 1968

Kollegium Biomathematik NW:
Biomathematik für Mediziner.
2. Aufl., Berlin, Heidelberg, New York: Springer 1976

Kopczynski, S.; Kurzaj, E.; Lipinska, D.:
The Effect of Corticosteroids on the Brain Metabolism in a Suprarenal Pathology.
Farmakol. i. Toksikol. 35, 329 - 333 (1972)

Long, D. M.; Maxwell, R. E.; French, L. A.;
The Effects of Glucosteroids upon Experimental Brain Edema.
In: Steroids and Brain Edema
ed. by H. J. Reulen, K. Schürmann
Berlin, Heidelberg, New York: Springer 1972, 65 - 76

Mahler, H. R.; Cordes, E. H.:
Biological Chemistry.
New York, Evanston, San Francisco, London:
Harper & Row 1971

Myllylä, V. V.:
Effect of Cerebral Injury on Cerebrospinal Fluid Cyclic AMP Concentration.
Eur. Neurol. 14, 413 - 425 (1976)

Nelson, S. R.:
Effects of Drugs on Experimental Brain Edema in Mice.
J. Neurosurg. 41, 193 - 199 (1974)

Neuenfeldt,D.; Herrmann, H. D.; Loew, F.:
The Influence of Dexamethasone on the Blood-Brain-Barrier and Water Content in Experimental Brain Edema.
Acta neurochir. (Wien) 30, 51 - 57 (1974)

Ortega, B. D.; Demopoulos, H. D.; Ransohoff, J.:
Effects of Antioxidants on Experimental Cold-Induced Cerebral Edema.
In: Steroids and Brain Edema
ed. by H. J. Reulen, K. Schürmann
Berlin, Heidelberg, New York: Springer 1972, 167 - 176

Pflanzagl, J.:
Allgemeine Methodenlehre der Statistik I und II.
5. bzw. 4. Aufl., Berlin: de Gruyter (1972/1974)

Reichert, W.:
Das Verhalten von Serumenzymen, Stoffwechselparametern und Blutgasanalyse beim Meerschweinchen nach Applikation eines isolierten Schädel-Hirn-Traumas und seiner Therapie mit Dexamethason.
Tübingen: Inaugural-Dissertation 1978

Seitz, H. D.; Hirschauer, M.; Metzel, E.; Schrader, H.; Zimmermann, W. E.; Krainick, J. U.; Mundinger, F.:
Klinische und tierexperimentelle Untersuchungen zum Hirnstoffwechsel und zur Hirndurchblutung beim Schädel-Hirn-Trauma.
Neurochirurgica 15, 201 - 209 (1972)

Siegel, B. A.; Studer, R. K.; Potchen, E. J.:
Effect of Dexamethasone on Triethyl-Tin Induced Brain Edema and the Early Edema in Cerebral Ischemia.
In: Steroids and Brain Edema
ed. by H. J. Reulen, K. Schürmann
Berlin, Heidelberg, New York: Springer 1972, 113 - 121

Suchenwirth, R. M. A.:
Medikamentöse Therapie neurologischer Erkrankungen.
Z. Allg. Med. 14, 774 - 782 (1978)

Struck, H.:
Experimentelle Medizin.
Stuttgart: Thieme 1973

Tornheim, P. A.; McLaurin, R. L.:
Effect of Dexamethasone on Cerebral Edema from Cranial Impact in the Cat.
J. Neurosurg. 48, 220 - 227 (1978)

Tornheim, P. A.; McLaurin, R. L.:
Effect of Dexamethasone on the Brain Edema of Cranial Impact.
Surg. Neurol. 5, 485 - 487 (1976)

Tutt, H. P.; Pappius, H. M.:
Studies on the Mechanism of Action of Steroids in Traumatized Brain.
In: Steroids and Brain Edema
ed. by H. J. Reulen, K. Schürmann
Berlin, Heidelberg, New York: Springer 1972, 147 - 152

Waldron, R. L.; Bridenbaugh, R. B.; Dempsey, E. W.:
Alterations at the Cellular Level in the Brain Following Pepeated Angiography: Protective Effect of Corticosteroids.
J. Canad. Ass. Radiol. 26, 82 - 87 (1975)

Wellhöhner, H. H.:
Pharmakologie und Toxikologie.
2. Aufl., Berlin, Heidelberg, New York: Springer (1976)

Wieck, H. H.:
Chronische zerebro-vaskuläre Insuffizienz.
Z. Allg. Med. 12, 694 - 700 (1978)

Withrow, C. D.; Woodbury, D. M.:
Some Aspects of the Pharmakology of Adrenal Steroids and the Central Nervous System.
In: Steroids and Brain Edema
ed. by H. J. Reulen, K. Schürmann
Berlin, Heidelberg, New York: Springer 1972, 41 - 54

Lebenslauf

Am 19. April 1953 wurde ich, Christian Homann, als Sohn des Studiendirektors Otto Homann und seiner Ehefrau Käte, geborene Hobus, in Itzehoe, Kreis Steinburg, geboren.
Nach Besuch der Volksschule Sude und des Kaiser-Karl-Gymnasiums in Itzehoe bestand ich dort im Mai 1971 die Reifeprüfung. Im Wintersemester 1971/72 begann ich an der Universität Tübingen mit dem Studium der Biochemie. 1973 immatrikulierte ich mich im Sommersemester für Medizin.
Im Oktober 1975 legte ich die mündliche Diplomprüfung in Chemie ab; bis April 1976 arbeitete ich an der Diplomarbeit über Untersuchungen zur reversiblen Oxygenierung an Hämoglobinmodellen.
Am 25. März 1977 bestand ich das Physikum und legte am 31. März 1978 den ersten Abschnitt der ärztlichen Prüfung ab.
In der Zeit von Mai 1976 bis Oktober 1978 führte ich unter der Leitung von Herrn Professor Dr. Ernst Bayer im Chemischen Institut der Universität Tübingen den experimentellen Teil einer Dissertation über Porphyrine, Synthese, Spektroskopie und Katalyse durch, während dieser Zeit war ich Stipendiat des Fonds der Chemischen Industrie.
Am 8. Mai 1979 erhielt ich den Doktorgrad: Dr. rer. nat.
Am 10. August 1979 heiratete ich Gisela, geborene Mohn.
Am 14. März 1980 bestand ich den zweiten und am 13. April 1981 den dritten Teil des medizinischen Staatsexamens.